

André B. Meneghetti¹, Rudimar L. Frozza¹, Andressa Bernardi², Juliana B. Hoppe¹, Ana Maria O. Battastini¹, Adriana R. Pohlmann^{2,3}, Sílvia S. Guterres², Christianne Salbego¹

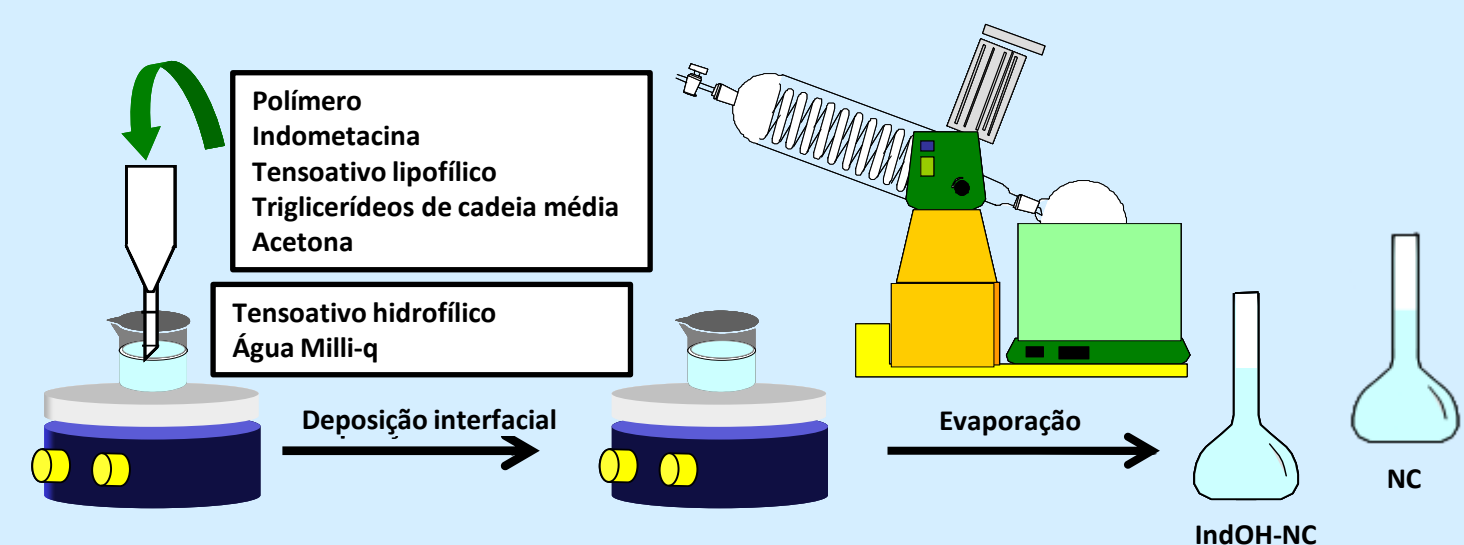
¹Departamento de Bioquímica; ²Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas; ³Instituto de Química; Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO

Neuroinflamação, deposição de proteínas insolúveis e neurodegeneração são importantes características da Doença de Alzheimer (DA). A resposta inflamatória está associada principalmente com a ativação microglial e astrocitária. Vários estudos têm documentado de maneira convincente o efeito benéfico dos anti-inflamatórios não-esteroides, como a indometacina, na DA. Considerando que a biodisponibilidade cerebral da indometacina é limitada devido a sua alta ligação a proteínas plasmáticas, sistemas nanoparticulados representam uma alternativa promissora para superar esta limitação. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com indometacina nanoencapsulada (IndOH-NC) contra a neuroinflamação induzida pelo peptídeo Aβ1-42 em modelos *in vivo* e *in vitro* da DA.

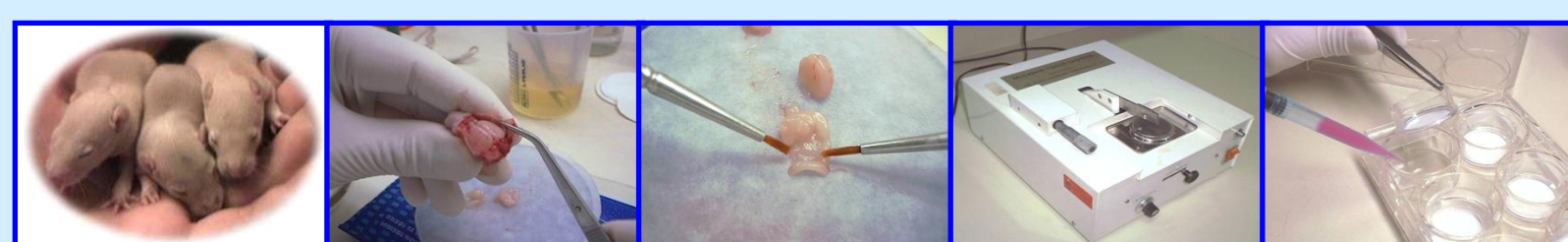
MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação das nanocápsulas

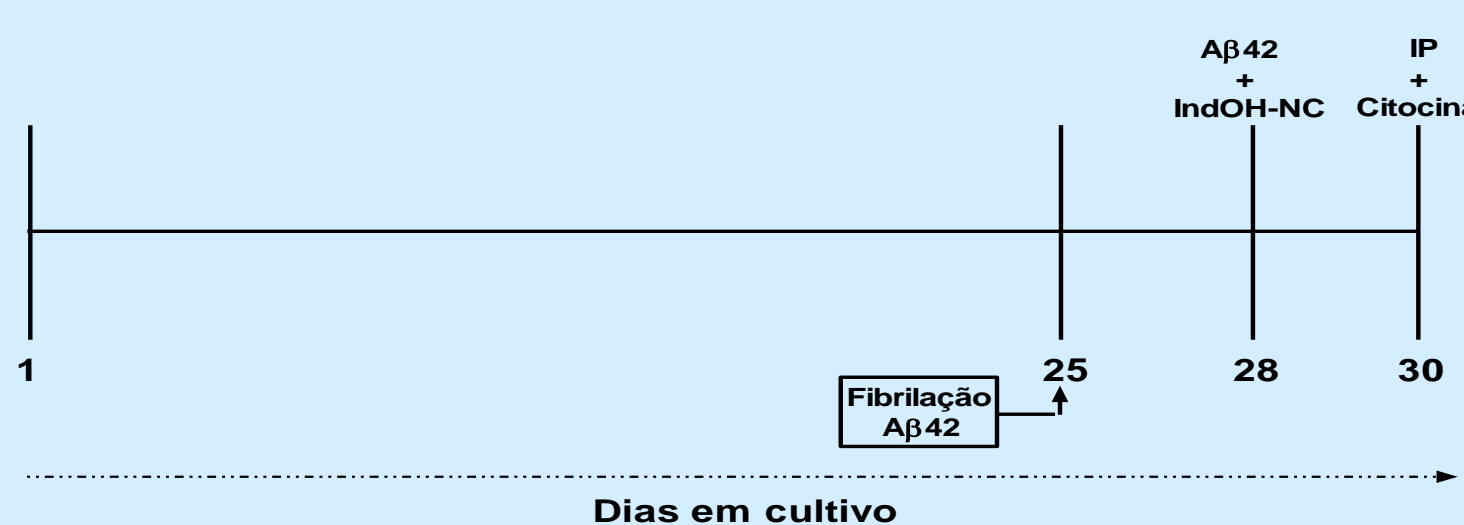


Colaboração com as Profas. Sílvia S. Guterres e Adriana R. Pohlmann
Jäger *et al.*, 2009. J Biomed Nanotechnol.

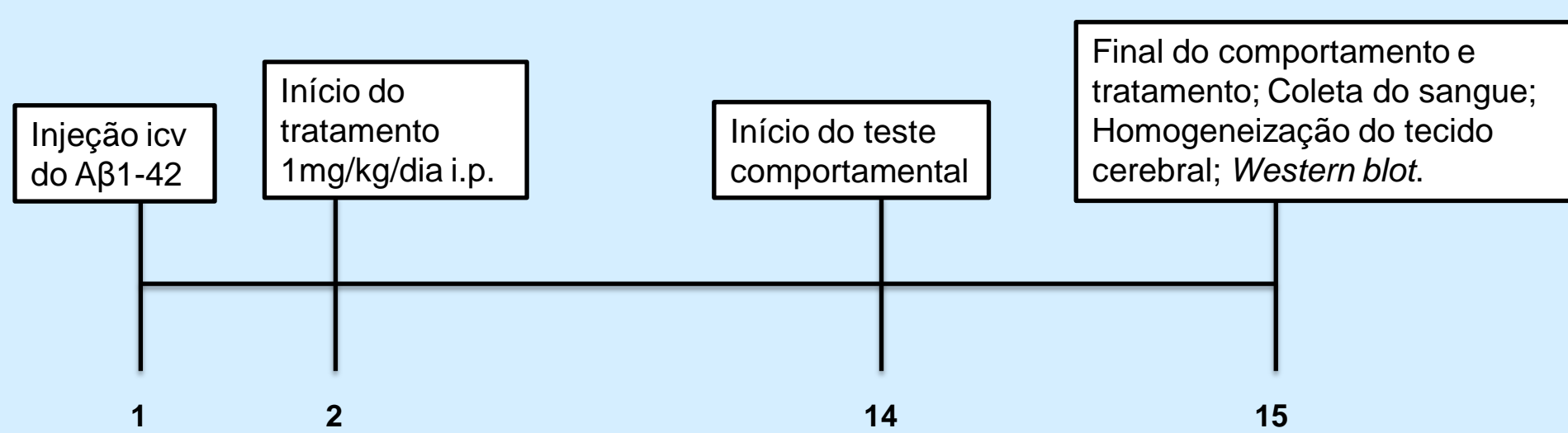
Modelo *in vitro*: Cultura organotípica



CEP-UFRGS, protocolo número 2007977

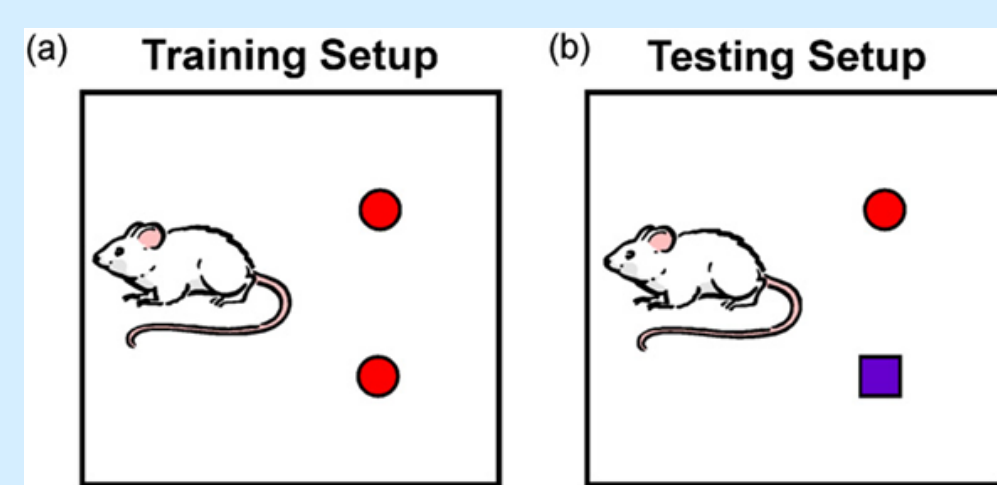


Modelo *in vivo*: Injeção intracerebroventricular

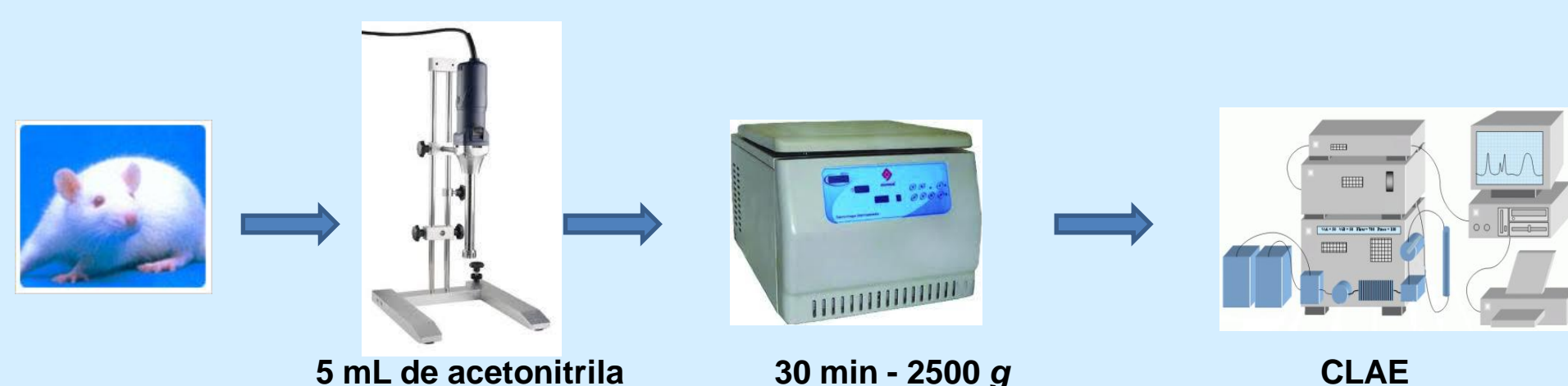


Análise comportamental: Reconhecimento de objetos

- Treino
- Memória de curta duração (3h)
- Memória de longa duração (24h)



Quantificação do fármaco no tecido cerebral



RESULTADOS

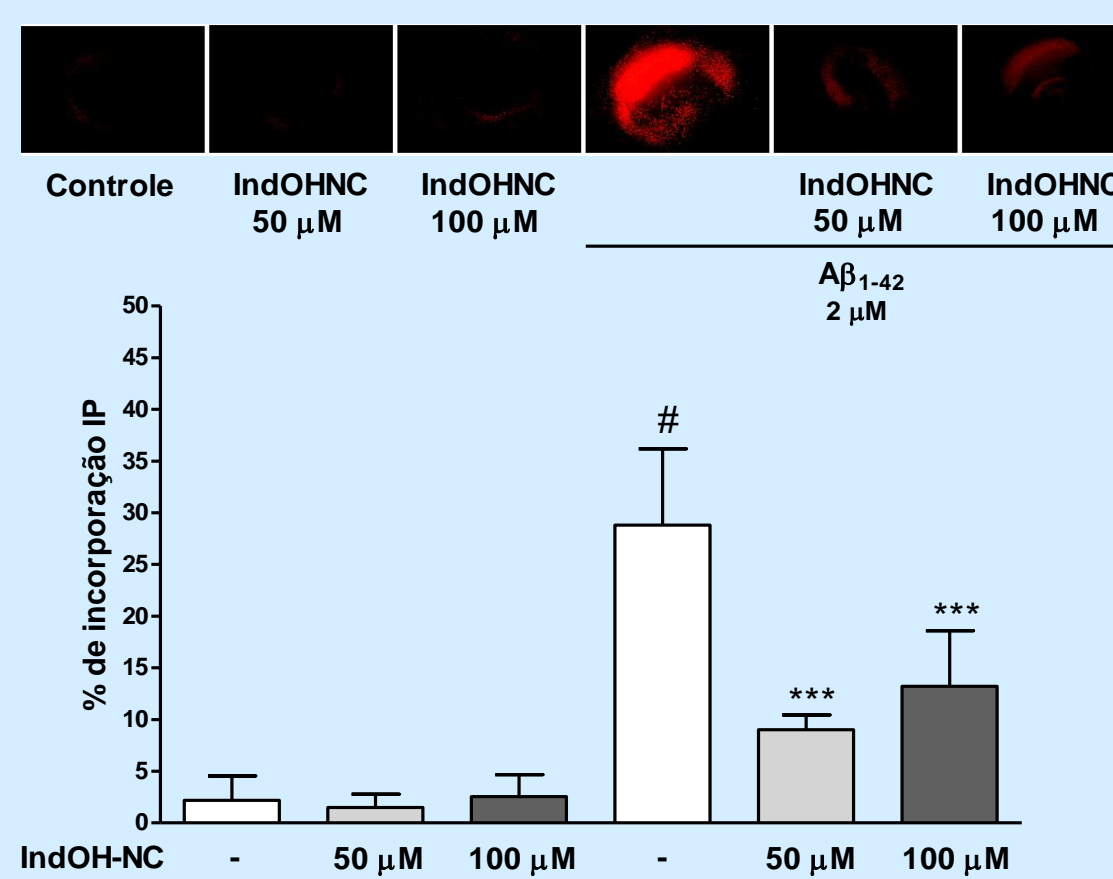


Fig. 1. Indometacina nanoencapsulada (IndOH-NC) diminui a lesão celular após a exposição de culturas organotípicas de hipocampo ao peptídeo Aβ1-42. Barras representam Média±DP, n=6. #Diferença significativa em relação às culturas controles. ***Diferença significativa em relação à cultura exposta ao Aβ1-42. (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey, p<0,001).

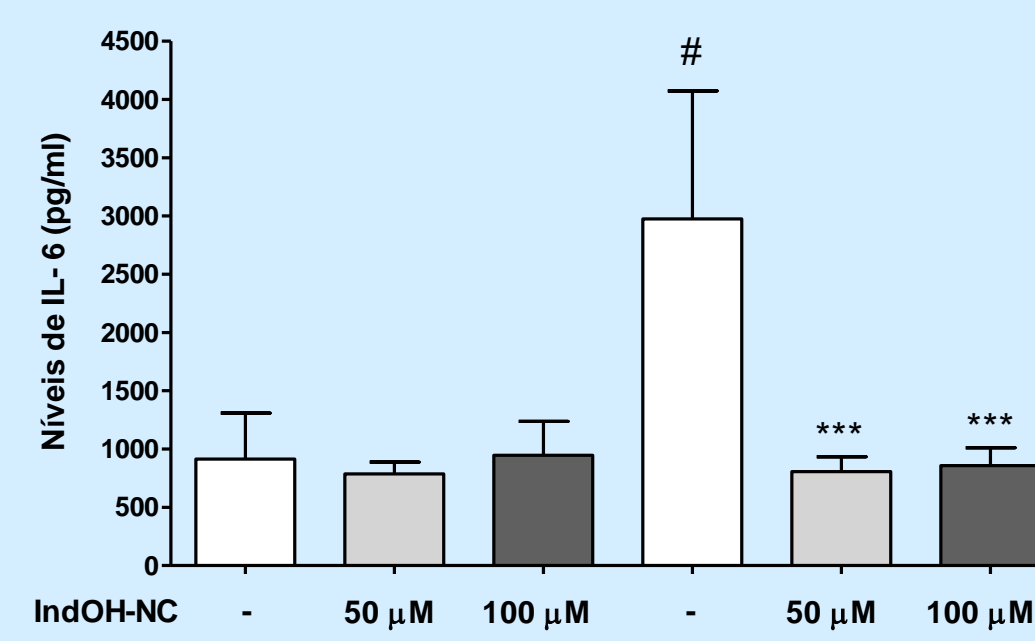


Fig. 2. Indometacina nanoencapsulada (IndOH-NC) diminui a neuroinflamação induzida pelo Aβ1-42 em culturas organotípicas de hipocampo. Nível de IL-6 liberada no meio de cultivo 48h após exposição ao peptídeo Aβ1-42. Barras representam Média±DP, n=3. #Significativamente diferente de todos os grupos. ***Significativamente diferente em relação às culturas expostas ao Aβ1-42. (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey, p<0,001).

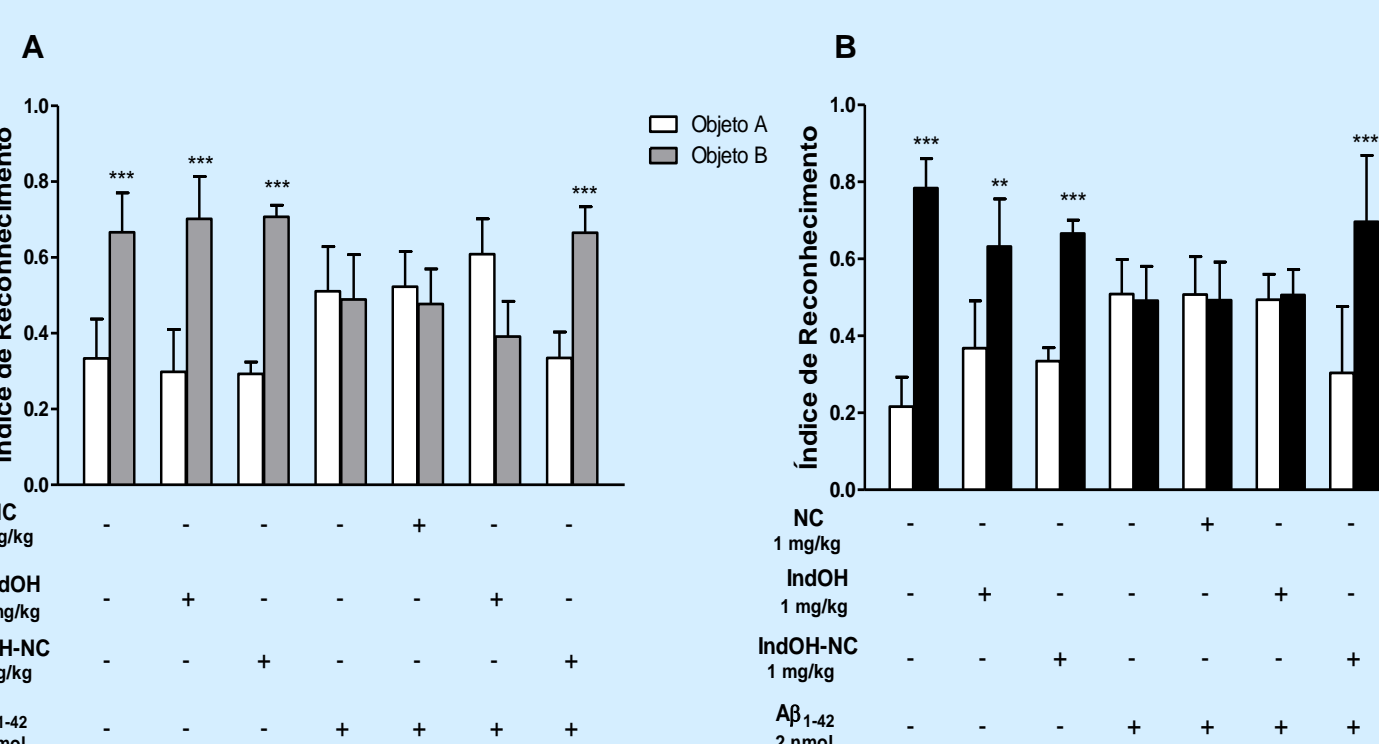


Fig. 3. Avaliação do déficit cognitivo induzido pela injeção icv do peptídeo Aβ1-42 em animais tratados com indometacina nanoencapsulada (IndOH-NC) (1 mg/Kg/dia i.p. por 14 dias). (A) Índices de reconhecimento do objeto familiar (Obj. A) e do novo objeto (Obj. B) 3h após o treinamento. (B) Índices de reconhecimento do objeto familiar (Obj. A) e do objeto novo (Obj. C) 24h após o treinamento. Significativamente diferente entre o índice de reconhecimento do objeto familiar (**p<0,01; ***p<0,001). Barras representam Média±DP, n=4 a 7 (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey).

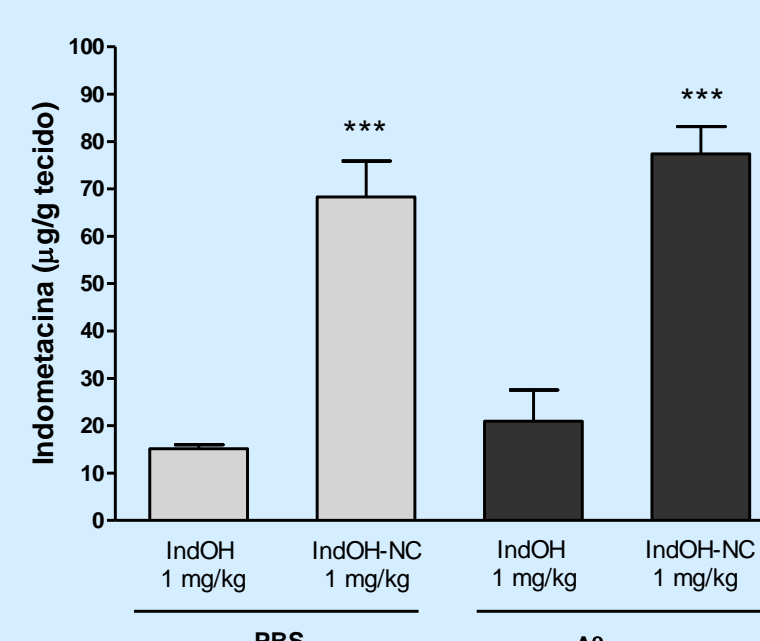


Fig. 4. Nanocápsulas aumentam a biodisponibilidade cerebral da indometacina nos ratos injetados com PBS e Aβ1-42. Barras representam Média±DP, n=6 animais por grupo. Os dados foram analisados pelo teste t de Student. ***Significativamente diferente dos animais tratados com IndOH (p<0,001).

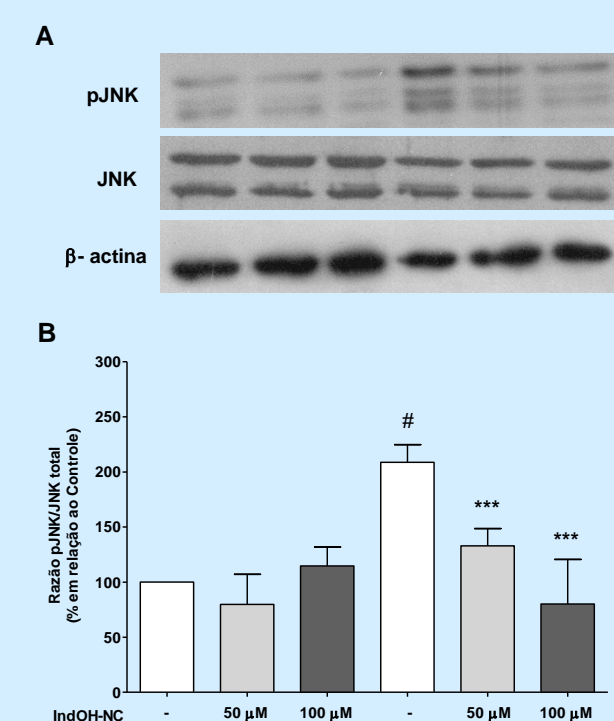


Fig. 5. Efeito do tratamento com indometacina nanoencapsulada (IndOH-NC) nos níveis de fosforilação da JNK em culturas organotípicas de hipocampo expostas ao Aβ1-42. Barras representam Média±DP, n=5. #Diferença significativa em relação às culturas controles. ***Diferença significativa em relação à cultura exposta ao Aβ1-42. (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey, p<0,001).

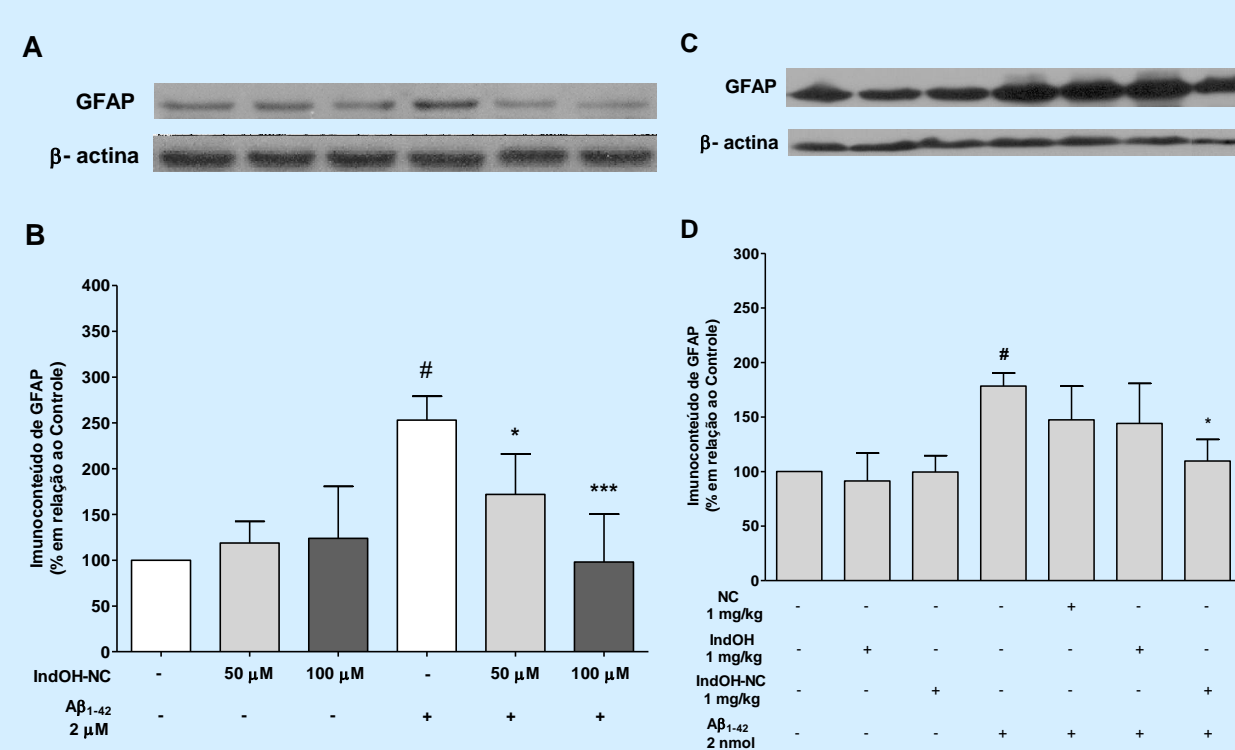


Fig. 6. Efeito do tratamento com indometacina nanoencapsulada (IndOH-NC) na ativação glial induzida pelo Aβ1-42 nos modelos *in vitro* (A, B) e *in vivo* (C, D). Barras representam Média±DP, n=5. #Diferença significativa em relação aos grupos controle. *Significativamente diferente do grupo Aβ1-42, ***p<0,001, *p<0,05 (ANOVA de uma via seguida pelo teste de Tukey).

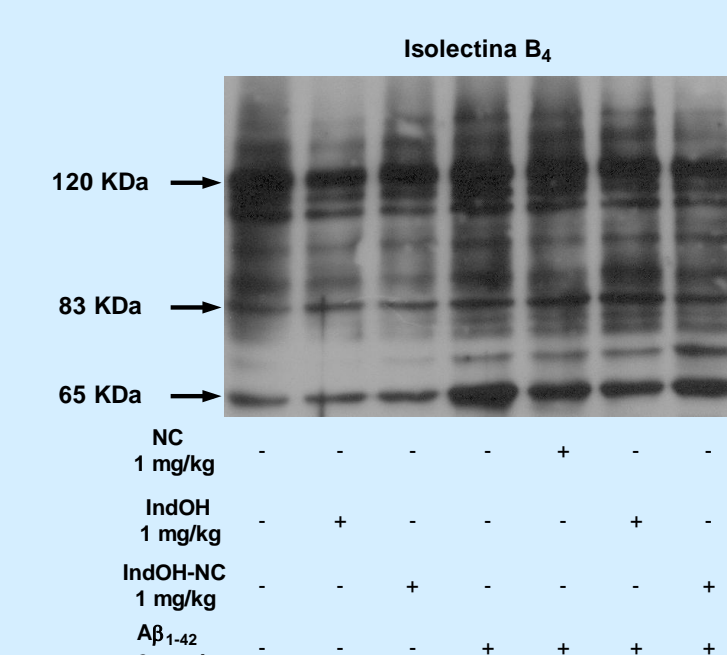


Fig. 7. Efeito do tratamento com indometacina nanoencapsulada (IndOH-NC) na reatividade da Isolectina B₄ induzida pela injeção intracerebroventricular do Aβ1-42.

CONCLUSÃO

Embora mais estudos sejam necessários, os resultados apresentados neste trabalho demonstram que a redução da neuroinflamação está envolvida no efeito neuroprotetor da indometacina nanoencapsulada.

Este é o primeiro trabalho demonstrando o efeito benéfico da indometacina em nanocápsulas em modelos da Doença de Alzheimer.

Apesar de a indometacina não ser utilizada rotineiramente na terapia da DA, nossos resultados sugerem que este fármaco, quando nanoencapsulado, poderia ser um potencial candidato para o tratamento desta patologia.

Apoio: